Aus der Chirurgischen Universitäts-Klinik Basel
(Vorsteher: Prof. Dr. C. Henschen)

Zur Frage der Wirkung arteigenen Lungenautolysats auf das lebende Lungengewebe

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von

PAUL HANS BAMBERG

aus

Berlin

STETTEN/BASEL 1938
BUCHDRUCKEREI KARL SCHAHL

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt
auf Antrag von Herrn Professor Dr. C. HENSCHEN

Tag der Promotion: 15. Dezember 1937

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet.

Ausgangspunkt der folgenden Experimente sind Feststellungen über bedeutsame Schutzfunktionen der Lungen und Beobachtungen der Chirurgischen Universitätsklinik Basel über die Wirkung von Stoffen, welche, Produkte eines autolytischen Gewebeabbaus, in kleinen Dosen als gewebespezifische Stimulantien oder Wuchs- oder Regenerationsstoffe wirken (vergl. zum Folgenden *Henschen* (15)):

1. Die eigenartige Lage der Lunge im Organismus bestimmt sie im Voraus zum Auffänger des gesamten venösen Blutes und der Lymphe, und damit zu einem Blut-Lymphfilter. Der riesige Gesamtquerschnitt ihrer Blutbahn, die geringe Stromgeschwindigkeit und die locker-schmiegsame Einbettung ihrer Kapillaren sind die Bürgen dieser Leistung. Dank der Sonderart ihres Gefäßsystems fängt die Lunge Einschwemmsel von Zellen und Parenchymbrocken ab; sie wirkt weiter als elektives Absiebungsfilter für kolloidale Sterine und Farbstoffe, homogene Blutschollen und lungenpflichtige Blutschlacken. Sie wird dadurch zu einem der Hauptorte nicht nur der chemischen, sondern auch der zellulären Blutreinigung.

2. Eine der Arten der intravasalen Schlackenverarbeitung im Lungengebiet spielt sich als intravasale Zellulolyse ab. Die besondere zytolytische Reinigungsaufgabe der Lunge betätigt sich gegenüber eingeschwemmten Knochenmarksriesenzellen und deren freien Kernen, gegenüber Plazentarriesenzellen, Leberparenchymembolien, Hirngewebs-, Nierenparenchym-, Strumazellembolien und verschleppten Chorionzotten. Diese Leistung wirkt sich schon im embryonalen, luftlos bewegten Organ gegenüber Mekoniumkörperchen und Amnionzellen aus. Diese entschlackende intravasale Zellulolyse im azinären Kapillargebiet ist eine organspezifische Leistung der Lunge. Sie verhütet eine Verschlammung ihres Absiebungsapparates. Möglicherweise ist dieser in einer Art Schnellverdauung sich abspielende Reinigungsvorgang einem hochaktiven Zytolysin zu verdanken.

3. Untersuchungen von *M. B. Schmidt*, die neuestens durch gleichzielende Untersuchungen des Pathologischen Institutes Tübingen voll bestätigt wurden, belehrten darüber, daß karzinöse und sarkomatöse Mikrometastasen der Lungen sehr häufig, Makrometastasen dagegen im Ganzen selten sind, weil die Karzinom- und Sarkomzellen im Lungengewebe zugrunde gehen, sei es durch direkte Auflösung der einzelnen Zelle, sei es durch endotheliale Schutzumwucherung größerer abgefangener Gewebsblöcke. Die Lunge ist darum mit Milz und Lymphdrüsen, Knochenmark und Leber und dem Mesenchym ein Hauptglied in den Entschlakkungs- und Selbstreinigungsmechanismen des Körpers und damit im natürlichen „antiblastomatösen" Schutzsyndikat.

4. Die Chirurgische Universitätsklinik Basel verwendet die stimulierende Wirkung kleiner Autolysatdosen, welche aus kleindosierten subkutan oder intravenös eingespritzten Aufschwemmungen artfremder Zellen vom Körper aus diesen Zellen herausgearbeitet werden, zu therapeutischen Zwecken. Spritzt man Rattenmännchen steriles Testikelautolysat in Reizdose, so kommt es zu einem Größerwerden der Testikel mit starker Zunahme der Spermatogenese. Injiziert man steriles Nierenautolysat in gleich vorsichtig bemessener Dosierung, so kommt es zu einer Größenzunahme der Niere, im Wesentlichen ihres Parenchyms, unter gleichzeitiger Steigerung der Funktion (*Henschen* (1)). Diese gewebespezifische Reiz- und Wuchsstoffwirkung wird benutzt zur Aufpeitschung der Heilung schlecht und verzögert heilender Knochenbrüche (Injektion einer Aufschwemmung von Periost- und Knochenmarkszellen in Ringerlösung), zur Heilungsbeschleunigung von Läsionen des zentralen Nervensystems (Injektion von Aufschwemmungen der Zellen des Rindengraus), und vor Allem zur Aufpeitschung der darniederliegenden Entschlackungsleistungen des Milz-Lymphdrüsen- und des Mesenchymsystems beim Karzinom. Die Wirkung einer solchen künstlichen „Milzung" des Körpers ging in augenfälligster Weise aus folgender Beobachtung von *Henschen* (2) hervor: Es trat bei einer Patientin, die mit Wirbelmetastasen nach Amputation einer karzinomatösen Mamma in die Chirurgische Universitätsklinik eingetreten war, und bei der eine Implantation von Schweinemilz vorgenommen wurde, 3 Tage nach dieser Implantation eine typische thrombopenische Purpura auf. Diese äußerte sich vor allem in Mundschleimhaut- und Hautblutungen. Zugleich erfolgte rapider Absturz der Thrombozytenwerte im Blut bis auf

11 160. Dieser Zustand dauerte etwa 14 Tage, wonach die Blutungen verschwanden und die Patientin sich gegenüber der Zeit vor dem Spitaleintritt deutlich wohler fühlte; die Schmerzen in der Halswirbelsäule nahmen ab, und sie konnte den Kopf freier bewegen. Die Thrombozytenwerte stiegen sehr langsam wieder an.

5. Wer experimentell mit sterilen Autolysaten von Lungengeweben oder mit Implantationen von Lungengewebe arbeitet, muß die Feststellung *Rogers* kennen und berücksichtigen (5), daß Extrakte mazerierter Lungen um Vieles giftiger sind als die anderer Drüsengewebe; diese spezifische Toxizität ist nach *Roger* eine Funktion der Lungenalbumine, welche unter physiologischen Bedingungen durch geschwind sich vollziehende proteolytische Spaltung rasch entgiftet werden.

Anlaß, der Wirkung arteigenen Lungenautolysats auf das lebende Lungengewebe im abklärenden Experiment nachzugehen, waren auffällige Beobachtungen an 2 Kranken der Chirurgischen Universitätsklinik Basel, bei welchen zwecks Steigerung des antiblastomatösen Selbstschutzes des Körpers neben Stückchen von Milz, Thymus, Nebenniere und Schilddrüse eines frisch getöteten, 6 Wochen alten Ferkels Stückchen von Lungenmantelgewebe eingepflanzt worden waren:

a) Frl. H. Sch., 53 Jahre. Eintritt am 20. 11. 1929. Status ergibt Ca der linken Mamma im Stadium Steinthal I. Entlassung nach Amputation am 7. 12. 29. — 31. 10. 33 Wiedereintritt zur Kontrolle. Befinden o. B. Einziger pathologischer Befund pleuritisches Reiben seitlich vorn links. Es werden in drei subkutane Taschen auf der linken Bauchseite Bröckel von Milz, Thymus und Schilddrüse eines frisch geschlachteten Ferkels implantiert. 4. 11. 33 beschwerdefrei entlassen. 17. 12. 33 Injektion von frischem Lungenbrei auf der rechten Bauchseite in der Klinik. Die Kranke fährt wieder heim (Kanton Bern). 29. 12. Brief des Arztes: Seit dem 17. 12. fühlt sich Patientin müde. Am 27. 12. wird der Arzt gerufen. Mittags Temperatur 39,2. Knisterrasseln in der linken Axillarlinie an der Basis des linken Unterlappens in ungefährer Ausdehnung eines alten Fünffrankenstückes. „Der Befund ließ die Vermutung einer beginnenden Pneumonie zu". Am 28. und 29. Morgentemperatur 38,2 bis 38,5, abends 39 bis 39,5. Pat. klagt über Schmerzen, die vom Kreuz beidseitig in die Unterbauchgegend ausstrahlen, und ferner unterhalb des linken Darmbeinkamms auftreten. Am 29. hat das Knisterrasseln links etwas abgenommen, ist aber jetzt in der rechten Axillarlinie an der Basis des rechten Unterlappens zu hören. Aus-

gesprochene Pneumonie bisher nicht nachweisbar. Übriger Befund negativ. Jedoch zeigt sich am 29. abends ein masernähnliches Exanthem (ca. 5 cm lang, 2 cm breit) an der Umgebung der Implantationsnarbe am linken Unterbauch, sowie eine starke Druckempfindlichkeit der Haut unterhalb der Narbe. Etwas lateral von der Injektionsstelle in der rechten Unterbauchgegend zwei bohnengroße rosa Flecken, sowie am rechten und linken Handgelenk je einer. Der Arzt fragte die Klinik an, ob dies wohl eine Überempfindlichkeitsreaktion darstellen könne. Dies wurde unter Hinweis auf einen andern Fall mit ähnlich starker Reaktion (s. b)) bejaht, und er zugleich ersucht, den weiteren Verlauf der Erkrankung mitzuteilen. Leider ist dies nicht geschehen. — Auf meine Anfrage teilte mir der behandelnde Arzt jetzt mit, daß die Patientin 4 Wochen lang behandlungsbedürftig war. Die beschriebenen Symptome gingen mit Fieber langsam zurück. Knisterrasseln konnte längere Zeit konstatiert werden, doch war weder Dämpfung noch Bronchialatmen noch blutiges Sputum nachweisbar. Der Hautausschlag sei ein Erythem mit mäßigem Juckreiz gewesen. — Die Patientin steht seither in ständiger Beobachtung der Klinik und stellt sich ein- bis zweimal im Jahr vor, das letzte Mal am 16. 10. 37. Ihr Befinden ist ausgezeichnet, auch objektiv ist kein Anhaltspunkt für das Auftreten von Metastasen gegeben.

b) Eine zweite wegen Karzinom operierte Kranke, bei welcher nach Spitalentlassung, d. h. nach abgeschlossener chirurgischer Heilung, ebenfalls eine Implantation von Lungengewebe zum Zwecke einer Aufpeitschung der antiblastomatösen Schutzfunktion der Lungen gemacht worden war, hatte eine völlig bildgleiche Reaktion.

Wir mußten daraus schließen, daß im Anschluß an die Implantation von Stückchen Lungenmantelgewebe in den menschlichen Körper eine unter dem Bilde einer Pseudogrippe verlaufende Lungenreaktion auftritt mit eigentümlichen (allergischen?) Reizerscheinungen an der Haut und im abdominellen Gebiet. Die besondere Stärke der Reaktion hängt vielleicht mit der bekannten besonderen Toxizität von Lungenextrakten zusammen. Daß diese pseudogrippöse Organreaktion als Antwort des Organs auf die aus dem Implantat vom Körper hervorgezogenen Autolysate zu deuten war und ist, ergeht aus zwei Tatsachen (vergl. *Henschen* (1)): 1. Sterile Autolysate zeigen im Versuch eine organspezifische Reaktion; es sei auf die schon geschilderte Wirkung der Injektion von Testikel- und Nierenautolysat hingewiesen. 2. Der zeitliche Eintritt der Lungenreaktion — 9—10 Tage nach der Injektion der Lungenzellenaufschwemmung — deckt

sich mit den Beobachtungen der Basler Klinik über den Zeitpunkt der „Autolysatreaktion“ im Tierversuch und am Menschen.

Die Giftigkeit des Lungengewebes und von Lungenextrakten ist bekannt. Allerdings herrscht keine völlige Einigkeit über das Wesen dieses Giftes. *Yoshizawa* (3) stellte fest, daß sich wäßriger Lungenextrakt durch Dialyse in eine kolloide und eine krystalline Substanz trennen lasse; beide Bestandteile seien giftig, und zwar die kolloide 245 mal giftiger als die krystalline; die letztgenannte läßt sich noch weiter in eine methylalkohol-lösliche und eine -unlösliche Fraktion trennen, von denen die erste 5,14 mal giftiger als die zweite sein soll. Die Giftwirkung der methylalkohol-löslichen Fraktion soll hauptsächlich auf ihrem Gehalt an Cholin, Pepton, Albumose, Prolin und Histamin beruhen. *Mori* (4) hingegen schließt aus der Tatsache, daß Lungenextrakt auf Uterus und Darm des Meerschweinchens wie Histamin wirkt und durch die Histaminase in seiner Wirksamkeit zerstört wird, „daß der wirksame Bestandteil des Lungenextrakts Histamin ist“. *Roger* (5) wieder schreibt die Giftigkeit summarisch den im Extrakt enthaltenen Eiweißkörpern zu, genauer den „substances protéiques“. Soviel scheint jedenfalls festzustehen, daß das wirksame Prinzip mit den Eiweißbestandteilen verbunden oder auch vielleicht identisch ist.

Ferner bestehen verschiedene Untersuchungen über die Wirkung des Lungengiftes: Es erhöht die Gerinnbarkeit des Blutes, diese wird bei Lungenexstirpation vermindert (*Roger* (5)). In eine Vene eingespritzt, erzeugt es eine allenfalls durch Lungenembolie zum Tode führende akute Venenthrombose (*Yoshizawa* (3)). Es verursacht bei Durchleitung durch die isolierte Kaninchenlunge eine Verringerung der Durchflußmenge, Verkleinerung der Atemkurvenausschläge und Gewichtszunahme der Lungenpräparate (stärker als Extrakte von Darm, Leber oder Niere, *Tominaga* (6)). Es erhöht den Blutdruck, wenn der Extrakt von Histamin befreit ist (*Dadlez* und *Koskowski* (7)). *Binet* (8) beschreibt andererseits im Lungengewebe ein Antikoagulationsferment.

Es wäre nun zu fragen, ob wir zur Erklärung der oben beschriebenen Krankheitserscheinungen irgendwelche dieser Ergebnisse verwenden könnten. Dies ist aus einer grundsätzlichen Überlegung zu verneinen. In allen oben geschilderten Versuchen wurden Extrakte aus frischen Lungen intravenös injiziert. Den beiden Patientinnen wurden kleine Stückchen von tierischem Lungen-

gewebe dagegen subkutan einverleibt; der Körper arbeitete aus den eingebauten Lungenteilchen „Lungenautolysate“ heraus, welche auf dem Wege der Resorption und Weitergabe an die Lunge zur Wirkung gelangten.

Es schied also bei einer Imitation der Vorgänge die direkte intravenöse Injektion aus und statt dessen erstand die Aufgabe, die Lunge erst mit der durch den Abbau, die Autolyse, veränderten Substanz in Berührung zu bringen. Diese Autolyse zu bewirken, standen zwei Wege zur Verfügung: in vivo und in vitro. Wenn in dem vorliegenden Versuch der zweite Weg beschritten worden ist, so geschah dies in dem klaren Bewußtsein, daß die Autolyse nicht als ein in beiden Fällen gleichartiger Vorgang aufgefaßt werden darf. Grob gesagt, besteht der Unterschied im Wesentlichen darin, daß bei einer Implantation Substrat, allfällige autolytische Fermente und die Produkte der Autolyse in einer ständig variablen Mischung ihre infolgedessen schwer zu kontrollierende Wirkung entfalten. In vitro hat man wenigstens die Mischung im Moment der Applikation einigermaßen in der Hand. Ein weiterer nicht unwesentlicher Unterschied besteht darin, daß bei der zur Anwendung gelangten Methode durch die weiter unten beschriebene mehrmalige Filtration sämtliche zelligen Elemente entfernt werden. Jedenfalls ist festzuhalten, daß mit dem vorliegenden Versuch nur e i n Weg zur Lösung des Problems begangen worden ist, und zwar lediglich wegen der größeren Klarheit der Versuchsanordnung. Der andere Weg, die „natürliche“ Autolyse, muß einer weiteren Untersuchung vorbehalten bleiben.

Das „künstliche“ Autolysat konnte natürlich intravenös gegeben werden.

Würden diese Injektionen in Serien fortgesetzt, so müßten sich — vorausgesetzt, es käme überhaupt eine Wirkung auf die Lungen in Frage — zunächst während des Versuches Krankheitserscheinungen und nach Abschluß makro- und mikroskopische Veränderungen an den Lungen feststellen lassen.

Von Interesse sind die Versuche, die *Yun* (9), allerdings wieder unter Anwendung frischer Organextrakte, mit Niere, Milz, Leber, Hoden und Herz vorgenommen hat; er untersuchte die Wirkungen auf die entsprechenden Organe, und fand mikroskopisch beträchtliche spezifische Degenerationserscheinungen. Freilich konnten auch diese Ergebnisse höchstens einen Hinweis darstellen.

Denn wenn auch durch die Autolyse die Wirkung von Organextrakten sich bestenfalls nicht qualitativ, sondern nur quantitativ verändert (stark verringert wird, vergl. *Michelazzi* (10)), so wußte man doch nicht, wieweit diese Verringerung gehen könnte. Auf der andern Seite entstehen bei der Autolyse ja gänzlich neue Produkte, die allenfalls auch neue Wirkungen entfalten könnten. Ein gewisser Anhalt bezüglich der Art dieser Wirkungen konnte vielleicht aus der Feststellung erhalten werden, daß Eiweißabbauprodukte die Adrenalinblutdruckwirkung bedeutend verstärken können (*Meyer-Gottlieb*, p. 422 (12)). In erster Linie entstehen, wie ja beim Eiweißabbau gewöhnlich, Leuzin und Tyrosin (*Binet* (8), *Jacoby* (11)). *Jacoby* hat ferner noch für die Autolyse der Lunge festgestellt, daß der aussalzbare Eiweiß-N in 10 Tagen um 20 % und in 20 Tagen um 23 % des Gesamt-N abnimmt, während der durch Mg austreibbare N bei 20 ccm Gesamtsubstanz nach 2 Tagen 0,0022 g und nach 6 Tagen 0,0033 g beträgt, vor der Autolyse jedoch 0 g.

Gewissermaßen in Parenthese wäre noch die Frage zu prüfen, ob die Erscheinungen vielleicht als anaphylaktische Reaktion zu deuten wären, wie sie an der Lunge nach Sensibilisierung mit Serum von *Duval* und *Binet* (13) und von *Fried* (14) beschrieben worden ist (zur Frage einer Pneumonie auf allergischer Grundlage vergl. *Henschen* und *Featherstone*). Diese Annahme entbehrt einer ausreichenden Begründung; denn die Möglichkeit einer Sensibilisierung, sei es durch die vorhergehende Organimplantation, sei es gar durch „absatzweise“ Resorption der Lungensubstanz, erscheint als zu unwahrscheinlich, als daß man darauf eine Erklärung basieren könnte.

Zur Aufgabe wurde also gemacht, den Extrakt autolysierter Kaninchenlungen Kaninchen einzuspritzen und die allfälligen Veränderungen der Lungen zu untersuchen.

Es wurden die Lungen frisch getöteter Kaninchen steril entnommen, mit dem Wiegemesser zerkleinert, in sterile Erlenmeyerkolben eingetragen und im Verhältnis 1:4 mit Ringerlösung übergossen. Nach Unterschichtung der Flüssigkeit mit Chloroform und Überschichtung mit Toluol zum Zwecke der Keimfreihaltung kamen die Kolben in den Brutschrank (37°), worin die einen 2, die andern 5 Tage der Autolyse überlassen wurden. Nach Ablauf dieser Zeit wurde die Flüssigkeit durch ein Seitz-Filter (Entkeimungsschicht „Seitz E. K.“ Größe 6) mit der Wasserstrahlluftpumpe in eine sterile Saugflasche filtriert. Ein Teil der klaren, grünlich-gelben Flüssigkeit wurde hierauf enteiweißt, da wie schon erwähnt angenommen wurde, das wirk-

same Prinzip des Lungengewebes sei in seinen Eiweißbestandteilen zu suchen. Dies geschah durch Hinzufügung von 20%-iger Trichloressigsäure in gleicher Menge; nachdem Versuche, die Enteiweißung nach einer von Roger (5) angegebenen Methode vorzunehmen (wonach das Eiweiß des Lungengewebes bei 42° koagulieren soll, — im Gegensatz zu dem des Blutes, das bei 50° gerinne) oder durch Alkokol zu bewirken (wobei der überschüssige Alkohol nachher hätte im Vakuum abgesaugt werden können) oder endlich mit geringeren Mengen Säure auszukommen, fehlgeschlagen oder wenigstens nicht in erwünschter Weise geglückt waren. Es bildete sich ein weißlicher Niederschlag, der die positive Biuretprobe gab, und von dem wieder steril abfiltriert wurde. Das klare Filtrat wurde mit n/1 NaOH unter Benützung von Kresolrot als Indikator bis zum Neutralpunkt (Umschlag von rot in gelb) titriert. Alle Fraktionen — 2tägiges Autolysat nicht enteiweißt, desgleichen enteiweißt, sowie 5tägiges Autolysat nicht enteiweißt, desgleichen enteiweißt, — wurden je im Verhältnis 1 : 10 mit Ringerlösung verdünnt. Hierzu wurden noch 2 Kontrollfraktionen hergestellt; und zwar zur Kontrolle der nicht enteiweißten Autolysate deren Lösungsmittel, nämlich Ringerlösung, sowie für die enteiweißten Flüssigkeiten Ringerlösung mit Trichloressigsäure $\overline{aa}$, bis zum Neutralpunkt mit n/1 NaOH mit Hilfe von Kresolrot titriert. So ergaben sich 10 Versuchsserien:

I. 2tägiges Autolysat, nicht enteiweißt
II. 2tägiges Autolysat, nicht enteiweißt, 1 : 10 verdünnt
III. 5tägiges Autolysat, nicht enteiweißt
IV. 5tägiges Autolysat, nicht enteiweißt, 1 : 10 verdünnt
V. 2tägiges Autolysat, enteiweißt
VI. 2tägiges Autolysat, enteiweißt, 1 : 10 verdünnt
VII. 5tägiges Autolysat, enteiweißt
VIII. 5tägiges Autolysat, enteiweißt, 1 : 10 verdünnt
IX. Ringerlösung
X. Ringerlösung, 20%-ige Trichloressigsäure $\overline{aa}$, n/1 NaOH

Für den Versuch vorgesehen waren 80 Kaninchen, sodaß auf jede Serie 8 Tiere kamen. In jeder Serie wurde dann noch die Unterteilung gemacht, daß 4 nur einmal, die andern 4 jedoch dreimal in der Woche gespritzt wurden. Die einmalige Spritzmenge betrug überall 0,5 ccm. Die Injektion erfolgte in die Ohrrandvene. Das Anfangsgewicht der Kaninchen bewegte sich zwischen 1850 und 2100 g. Es waren gleichviel Männchen wie Weibchen, und diese Parität war auch in den Serien und Unterserien durchgeführt worden. Die Versuchsdauer war auf 3 Monate festgesetzt. Während der Versuchszeit gingen 24 Kaninchen = 30% ein. Diese verteilten sich wie folgt:

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
a b	a b	a b	a b	a b	a b	a b	a b	a b	a b
2 2	1	2 1	1 1	1	2	2	1 2	1 1	3 1

(a bedeutet die einmal pro Woche gespritzten, b die dreimal gespritzten Halbserien).

Von diesen wiesen 3, nämlich in IIa, IVa und IXa, Lähmungen der unteren Körperhälfte auf, bei der Sektion fanden sich Blutungen im Spinalkanal, Ursache unbekannt; 2, in IIIa und IIIb, erlitten Herztod durch Einspritzen von Chloroform, das versehentlich nicht völlig aus der Flasche entfernt worden war; 4, in Ib, Vb, VIIIa und Xa, wiesen schwerste stinkende Pleuraempyeme auf; 1, in Xa, zeigte multiple, bis faustgroße, subkutane Abszesse, deren Erreger jedoch nicht diagnostiziert wurde; bei 2, in VIa und Xa, wurde Pneumonie im Stadium der roten Hepatisation festgestellt; doch wiesen eigentlich alle Leichen mehr oder minder fortgeschrittene Entzündungsprozesse an den Lungen auf, was bei der Jahreszeit (der Versuch fand in den Wintermonaten statt) und der bekannten Empfindlichkeit der Tiere gegen Erkältungen nicht verwunderlich erscheint; denn die durchschnittliche Mortalitätsziffer unbehandelter Kaninchen beträgt beim gegebenen Lebensmilieu ca. 25%. Nach Ablauf der Zeit von 3 Monaten wurden die Tiere teils mittels Schlag auf den Kopf, teils durch Luftembolie und teils durch Verblutenlassen getötet (unter Lokalanästhesie mit Novokain wurde die Art. femoralis freipräpariert und durchschnitten). Den verendeten Tieren wurden die Lungen herausgenommen, in 10%igem Formalin fixiert, wie üblich in Paraffin eingebettet und mit dem Mikrotom geschnitten. Die Schnitte wurden gefärbt mit Hämalaun — Eosin, Hämatoxylin — van Gieson, und Weigertscher Elastiçafärbung, je 2 Schnitte. — Aus weiter unten zu besprechenden Gründen wurde später noch ein Nachversuch mit Serie VII und X durchgeführt. Hier war die Versuchsdauer 2 Monate. Die Anzahl der Kaninchen betrug im ganzen 12, sodaß auf jede Serie 6, auf jede Halbserie 3 kamen. Weiterbehandlung wie oben. Es ging während dieses Versuches ein Kaninchen ein (VIIb), das ebenfalls Lähmung der unteren Körperhälfte und Blutungen im Spinalkanal, bei unbekannter Ätiologie, aufwies. — Als experimentum crucis wurde noch ein Nebenversuch mit 3 Kaninchen vorgenommen, denen während einer Woche dreimal 0,5 ccm Casein injiziert wurde. Das Casein war im Verhältnis 1:5 mit Ringerlösung versetzt und 3 Tage im Brutschrank gehalten worden, Filtration wie oben. Dieses geschah, um allfällige unspezifische Eiweißwirkungen ausschalten zu können. — Es entstanden somit 552 Präparate von Tieren aus Haupt- und Nachversuch; hinzu kamen die 18 Präparate der mit Casein gespritzten Tiere. Zur Kontrolle der autolytischen Prozesse waren noch zweimal je 2 Präparate von 2 und 5 Tage lang der Autolyse überlassener Lunge angefertigt und in oben angegebener Weise gefärbt worden. Endlich war zur Untersuchung der Wirkung der Tötungsart je 1 Präparat von Kaninchen hergestellt, von denen eins durch Schlag auf den Kopf, das zweite durch Luftembolie (Einspritzen von 80 ccm Luft in die Ohrvene) und das dritte durch Ausblutenlassen getötet war.

Bei der im Folgenden gegebenen Beschreibung der Befunde soll gemäß der im Voraus gehegten Erwartung auf klinische, makroskopische und mikroskopische Veränderungen vorgegangen werden.

I.

Die klinische Beobachtung ließ mit Ausnahme derjenigen Fälle, bei denen es zum exitus letalis sei es durch die Lähmungen, sei es durch die pneumonischen Affektionen kam, und bei denen die entsprechenden Symptome einige Tage vorher leicht festgestellt werden konnten, nirgends pathologische Befunde erheben, die auf die Autolysatwirkung hätten bezogen werden können. Unter Berücksichtigung der oben mitgeteilten prozentualen Abgangsquote bei außer Versuch gehaltenen Tieren, bei denen allerdings niemals die spinalen Lähmungserscheinungen festgestellt werden konnten, scheint es nicht erlaubt, zwischen den pulmonalen und pleuralen Erscheinungen einerseits und den Autolysatwirkungen andererseits einen Kausalzusammenhang herauszulesen. Aber auch die mitgeteilten spinalen Lähmungen von 4 Tieren dürfen aller Wahrscheinlichkeit nach nicht auf den Injektionsversuch zurückgeführt werden, befindet sich doch unter ihnen ein Tier, das nur mit gewöhnlicher Ringerlösung gespritzt worden ist.

Im Übrigen drängt sich, abgesehen vom vorliegenden Versuch, die Frage auf, ob vielleicht irgend ein epidemisch wirkendes Agens die Lähmungen verursacht haben könnte. Eine Morbidität von 4,4 % könnte schon daran denken lassen. Doch ist offenbar keine Erkrankung von Kaninchen bekannt, auf die sich die angegebenen Symptome beziehen ließen (*Hutyra* und *Marek* (17)). Auch Herr Dr. *Plattner*, Tierarzt in Basel, war so liebenswürdig, mir dies auf Grund seiner Erfahrungen zu bestätigen.

II.

Was die Obduktionsbefunde anbelangt, so ist darüber kurz folgendes zu berichten:

Die durch Schlag auf den Hinterkopf getöteten Tiere zeigten die von der pathologischen Anatomie her bekannten kleinen frischen hellroten Blutaustritte im gesamten Lungengewebe, so wie sie bei schweren Affektionen bezw. Verletzungen des Gehirns und besonders der Medulla oblongata beschrieben wurden. Sie sind

bekanntlich auf durch nervöse Einflüsse bewirkte Veränderungen an den kleinsten Lungengefäßen zu beziehen (*Ceelen* (18), *Kaufmann* (19)).

Bei all den Tieren, die durch Aderlaß getötet waren, fanden sich, wie zu erwarten, außer einer deutlichen Blutarmut der Lungen keine Besonderheiten. Vor allem fehlten alle Zeichen von alten oder jungen herdförmigen Blutaustritten oder von Gewebsuntergang. Bei den meisten war ein spärliches Randemphysem deutlich.

Bei den durch Luftembolie getöteten Versuchstieren entwikkelte sich das typische Bild der Infarktlunge mit an den Infarktstellen leicht eingedellten Oberflächenbezirken und Partien mit vikariierendem Emphysem.

Die meisten Tiere waren durch Schlag auf den Hinterkopf getötet worden, wobei sich der oben bereits dargelegte entsprechende Befund erheben ließ. Bei Besprechung der histologischen Bilder wird weiter unten nochmals davon die Rede sein.

Sonst waren die Lungen durchwegs hellrosa gefärbt, von üblicher Konsistenz, im ganzen blut- und saftreich, ohne Besonderheiten. Vor allem konnte man nirgends Veränderungen weder an der parietalen noch an der viszeralen Pleura feststellen; weder Trübungen noch Auflagerungen, noch Erguß. Auch die übrigen Organe zeigten keinerlei Veränderungen, die in diesem Zusammenhang erwähnenswert wären. Von Wichtigkeit erscheint es, zu unterstreichen, daß auch niemals eine trübe Schwellung der parenchymatösen Organe festgestellt werden konnte.

III.

Bei der Betrachtung der histologischen Präparate ergab sich zunächst insoweit eine Enttäuschung, als sich die Hoffnung auf ein der Versuchsanordnung entsprechendes, von Serie zu Serie quantitativ verschiedenes Resultat in keiner Weise erfüllt zeigte. Ja, im Anfang der mikroskopischen Untersuchung erschien sogar der erwartete fundamentale qualitative Unterschied zwischen enteiweißter und nicht enteiweißter Gruppe völlig verwischt. Schuld hieran war ein äußerst eigenartiges und absolut unverhofftes Phänomen, das sich völlig regellos hier und dort zeigte, gegen jede gemutmaßte Ordnung in einem Präparat stärker, in einem anderen schwächer auftrat, stellenweise überhaupt alle etwaigen anderen pathologischen Erscheinungen allein verursacht zu haben schien, — kurz, jede vorher gehegte Erwartung und nachher versuchte Erklärung über den Haufen warf.

Die Erscheinung bestand in zahlreichen dunklen grünlichbraunen Krümeln, deren Größe von feinstem Staub bis zu mehrfachem Leukozytenumfang variierte. Die Formen waren manchmal rund, vor allem bei den kleineren, dann wieder kantig, bei den größeren schollig, zum Teil mit feinen Ausläufern, die fast an Knochenkörperchen erinnerten. Auch Phagozytose durch leukozytäre und histiozytäre Wanderzellen war zu sehen.

Der naheliegendsten Erklärung einer Pneumokoniose widersprach die Tatsache, daß die Krümel zwar in allen Gewebsbezirken ziemlich gleich häufig auftraten, bestimmt aber in den Alveolen auffallend selten zu finden waren. Daß es sich um Fremdkörper handle, erschien nach dem ganzen Bilde doch ziemlich sicher. So blieb die andere Importstraße zur Erklärung übrig, die Blutbahn; mit anderen Worten, die Krümel mußten mit der Injektion hineingekommen sein. Da die oben geschilderte Filtration Korpuskeln von derartigen Dimensionen nicht hätte ins Filtrat gelangen lassen, konnten sie also nur später entstanden sein. So schien denn die Tatsache eine ganz plausible Erklärung abzugeben, daß die Injektionsspritzen außer mit kaltem und warmem Wasser mit 70 %igem Alkohol gereinigt worden waren, wodurch geringe zurückgebliebene Reste in Flüssigkeit gelösten Eiweißes zur Koagulation gebracht worden sein konnten.

Es ergab sich also die Notwendigkeit, zum Erhalt niederschlagsfreier Präparate den schon erwähnten Nachversuch anzustellen. Hier wurde dann nur eiweißfreies Material gespritzt, nämlich Serie VII (5 tägiges Autolysat, enteiweißt) und Kontrollserie X; Alkoholreinigung der Spritzen unterblieb.

Doch auch bei den nunmehr gewonnenen Präparaten zeigten sich die Krümel; vielleicht nicht ganz so grob wie vorher, aber doch mit ganz unbedeutender Abweichung. — Es scheint nicht notwendig, nun auch die vorhin gegebene Erklärung zu widerrufen, daß nämlich die Niederschläge durch die Injektion verursacht seien. Daß sie die Erscheinungen zum Teil verständlich machen kann, ist sicher, sie ist aber eben nicht ausreichend. Wir müssen uns zu der Feststellung entschließen, daß eine befriedigende Erklärung nicht gegeben werden kann; die Annahme von Leukozytentrümmern oder nekrotischen Gewebsbestandteilen ist mit nichts zu beweisen, womit sie nicht auch bestritten werden könnte. Die Krümelbildung bleibt ein unerklärtes Phänomen.

Im Folgenden soll versucht werden, ein summarisches Bild der mikroskopischen Befunde zu geben unter Abzug der erwähnten Erscheinungen von feinsten bis grobscholligen Korpuskeln, soweit dies möglich ist; wo diese das Bild zu beherrschen oder verursacht zu haben scheinen, wird besonders darauf hingewiesen. — Wie schon erwähnt, ist eine gesonderte Beschreibung der einzelnen Serien nicht möglich, da sich die Bilder allerorts überschneiden, wodurch eine Bewertung auf quantitativer Grundlage verunmöglicht wird.

Bei der histologischen Betrachtung hat man sich stets vor Augen zu halten, daß die meisten Versuchstiere durch wenn auch nur leichten Schlag auf den Hinterkopf getötet wurden. So zeigen eine Anzahl unbehandelter Kontrolltiere, die auf diese Weise getötet wurden, nicht in allen, aber doch in den meisten Präparaten da und dort kleine und kleinste fleckweise Hyperämien und Hämorrhagien im Lungengewebe (s. o.). In ihrem Erscheinungsbereich fehlen alle Zeichen entzündlicher Gewebsreaktion, die ausgetretenen roten Blutkörperchen sind nicht einmal hämolysiert, wir vermissen die Phagozytose und sogar deutliche ödematöse Veränderungen.

Wenn oben gesagt wurde, es sei keinerlei quantitativer Unterschied zwischen den Präparaten ersichtlich, so kann das hier insoweit berichtigt werden, als allem Anschein nach ein solcher zwischen ein- und dreimal pro Woche gespritzten Tieren besteht, und zwar im Sinne einer geringeren oder größeren Progredienz eines — pathogenetisch freilich unbewiesenen — Prozesses. Im Folgenden wird denn auch von den 3 mal gespritzten als von den älteren, von den anderen als von den frischen Fällen die Rede sein.

Die Lungen jener Tiere, welche mit nicht enteiweißtem Autolysat gespritzt worden sind, gleichgültig ob der Versuch nur kurze oder längere Zeit gedauert hat, zeigen äußerst zahlreiche kleinste Hämorrhagien, welche meist die normale Struktur des Gewebes kaum mehr erkennen lassen. Das Auffallendste dabei sind die in den großen und kleinen Venen, vor allem im Kapillarnetz liegenden fein- bis relativ grobkörnigen graubräunlichen Krümel, und die außerordentlich starke Erweiterung und Blutfülle dieser Blutgefäße. Diese Hyperämie ist ungleich und besonders da ausgesprochen, wo die Niederschläge sehr reichlich sind; woraus zwischen Niederschlagsmenge und Ausdehnung der Hämorrhagie ein Kausalzusammenhang unzweifelhaft ersichtlich ist (wobei aller-

dings keine Entscheidung getroffen werden kann, welches Ursache und welches Wirkung sei). Darüber hinaus ist das Gewebe in den frischen Fällen stark ödematös durchtränkt, in den älteren Fällen mit allen Zeichen kleinkerniger Nekrose. In der Nachbarschaft all dieser kleinen Hämorrhagien ist das Gewebe vikariierend emphysematös verändert.

In längeren Versuchsstadien sind ausgedehnte schwerste herdförmige Nekrosen mit partieller leukozytärer Infiltration und intensiver produktiver Gewebsreaktion zu sehen. Letzteres ist besonders bei jenen Präparaten deutlich, bei denen die krümeligen Niederschläge nicht grobschollig, sondern eher mittelgroß und gleichmäßig verteilt sind; dann sind offenbar die früher akut hämorrhagischen Bezirke pneumonisch verändert. Hierbei sind die Alveolen neben frischen und älteren Blutresten selbst mit aus den Gefäßen ausgetretenen Niederschlägen angefüllt, mit desquamierten Epithelien und vor allem polynukleären Leukozyten; daneben finden sich vereinzelte Lymphozyten und Plasmazellen, manchmal auch Fibrin. Es ist deutlich sichtbar, wie ein Großteil der Niederschlagsmengen intrazellulär sowohl in Leukozyten wie in histiozytären Wanderzellen verfrachtet liegt. In diesen Stadien sind bereits auch die regionalen Lymphdrüsen mit derartigen Niederschlägen angereichert.

In noch späteren Versuchsstadien sind immer wieder neben kleineren akut nekrotischen Bezirken ganze Gewebspartien zu erkennen, in denen über das eben Beschriebene hinaus eine sehr deutliche bindegewebige Proliferation sowohl im interstitiellen Gewebe wie in den angeschoppten Alveolarlumina vorliegt. Dabei springt auch hier ganz besonders die außerordentlich gleichmäßige Verteilung der Niederschlagskrümel in die Augen, ganz unabhängig etwa vom Verlauf des ursprünglichen Kapillarnetzes. Es sind Gewebsbezirke mit allen Zeichen einer chronischen Pneumonie; man hat den Eindruck, daß diese ganz besonders häufig unterhalb der Pleura liegen, währenddem hier die nekrobiotischen Bezirke eher sehr spärlich sind, und gehäufter gegen den Lungenhilus zu auftreten. Die über diesen chronisch pneumonischen Herden liegende Pleura visceralis ist überall ebenfalls bindegewebig verdickt, mit fibrinösen Auflagerungen und hauptsächlich lymphozytärer Infiltration. Das junge histiozytäre Gewebe geht hier direkt von der Pleura breit angelegt in die beschriebenen Herde über. Ödematöse Veränderungen fehlen hier fast vollständig.

Daneben gibt es Präparate, und es sind offenbar die jener Tiere, wo die Niederschläge im Verlauf des Versuches grobschollig auftraten, wo ganze Gewebsbezirke völlig nekrotisch eingeschmolzen, partiell auch abszeßartig verändert sind. Dann fehlt meist jede Kernzeichnung, und die frühere Gewebsstruktur ist dann nur mehr ein unzusammenhängendes kernloses Maschenwerk mit Resten von elastischen Fasern. Es erscheint wohl nicht abwegig, bei diesen Präparaten im Vergleich mit den im vorigen Absatz beschriebenen eine geringere Resistenz der eingedrungenen Noxe gegenüber anzunehmen.

Vergleicht man mit diesen Versuchsresultaten die Präparate der mit Casein gespritzten Kontrolltiere, so sind auch hier vor allem die zahlreichen Hämorrhagien mit da und dort vorhandenen Zeichen akuter Entzündung zu sehen, und auch hier korrespondieren die hämorrhagischen Stellen mit den kleinkrümeligen Niederschlägen. Was man aber hier besonders vermißt, das ist einerseits die frühere hochgradige Hyperämie und vor allem das ausgedehnte Ödem.

Geht man zur Betrachtung jener Lungen über, die mit enteiweißtem Autolysat gespritzt worden sind, so trifft man auf ein sehr eigenartiges Bild. Hämorrhagien fehlen hier fast vollständig. Wo solche überhaupt gefunden werden, dürfen wir sie ohne Bedenken der Tötungsart zuschreiben. In Parallele damit vermissen wir meist akute Entzündung. Das Eigenartige an diesen Präparaten ist die starke gleichmäßige Hyperämie des Lungengewebes. Die Kapillaren sind mittelweit und sehr blutreich, dadurch erscheinen die interalveolären Septen verdickt. In den Alveolen findet sich ödematöse Flüssigkeit ohne Fibrinniederschläge und fast ohne Zellen. Desquamierung der Alveolarepithelien fehlt, die Zellen zeigen durchwegs gute Kernzeichnung und sind nicht gequollen. Man hat den Eindruck, daß da und dort das Interstitium, besonders bei längerer Versuchsdauer, leicht vermehrt sei; die Befunde erscheinen jedoch nicht zur Begründung eines Kausalzusammenhanges hinsichtlich der gespritzten Autolysate auszureichen.

Vergleicht man das eben Gesagte mit den Befunden der Caseinkontrolltiere und vor allem auch mit jenen Präparaten, die von Kontrolltieren stammen, die nur mit Ringer- bezw. Säure-Laugenlösung behandelt wurden, so kann man sich des Eindrucks nicht erwehren, daß die vorliegende Gewebshyperämie und die

ödematösen Veränderungen doch etwas Besonderes, vielleicht Spezifisches, darstellen. Diese besondere Gewebsreaktion scheint in Richtung einer zelligen Proliferation des Lungenstromas zu liegen. Vielleicht könnte dieser Effekt mit dem *Arthus*-Phänomen verglichen werden. Auch wäre zu fragen, ob man nicht in den geschilderten Erscheinungen einen Ansatz zur Gewebewucherung im Sinne des „Gesetzes der Gewebespezifität“ (*Henschen* (15)) erblicken dürfte. Ferner besteht die Möglichkeit, daß vielleicht eine „Schlackenthrombose“ vorliegt (*Henschen* (15)); diese allergische Reaktionsform gibt ein Beispiel für die Schutzfunktion des Lungenparenchyms, indem sie in den azinären Kapillargebieten „mit konglutinations-thrombotischer Arretierung der Leukozyten und nachfolgender Phagozytose und Thrombolyse“ auftritt. Endlich könnte es sich auch um etwas durchaus Unspezifisches handeln.

Welche dieser Möglichkeiten man als Ursache bezeichnen soll, kann jedenfalls aus dem histologischen Bilde nicht entschieden werden.

Zusammenfassung.

1. Es wurde zur Erklärung zweier unklarer Lungenerkrankungen nach subkutaner Einverleibung von Lungenbrei der Versuch unternommen, nach an Kaninchen ausgeführten Injektionen von arteigenem Lungenautolysat etwaige Veränderungen an ihren Lungen festzustellen.
2. Die klinische und makroskopisch-anatomische Beobachtung ergab keine Besonderheiten.
3. Die histologische Untersuchung zeigte in mehr oder minder fortgeschrittenem Prozeß zunächst allgemeine Hyperämie, multiple Hämorrhagien und Ödeme, darauf herdförmige Nekrosen mit produktiver Gewebsreaktion.
4. Bei mit Casein gespritzten Kontrolltieren fanden sich ebenfalls kleine Hämorrhagien und leichte Entzündung, dagegen weder Hyperämie noch Ödem.
5. Mit enteiweißtem Lungenautolysat behandelte Tiere wiesen vor allem Hyperämie und geringe bindegewebige Proliferation auf, dagegen weder Hämorrhagien, noch Ödeme, noch Nekrosen.

Am Schluß möchte ich Herrn Professor *Henschen*, Leiter der Chirurgischen Klinik des Bürgerspitals, für die Angabe des Themas und den liebenswürdigen Hinweis auf einige Literaturstellen herzlich danken, sowie Herrn Dr. *Bucher*, wissenschaftlichem Assistenten der Klinik, für die vielfältige Hilfe, die er mir bei der Anordnung der Versuche und der Sichtung der Ergebnisse angedeihen ließ.

Literatur.

1. Henschen: Schweiz. med. Wochenschr. 1929, Bd. 10, p. 1239.
2. Hugi: Inaug.-Diss. Basel 1936 (Deutsche Zeitschr. Chir., Bd. 246, p. 218).
3. Yoshizawa: Fukuoka-Ikwaidagaku-Zasshi 1935, Bd. 26, p. 5.
4. Mori: Okayama-Igakkai-Zasshi 1936, Bd. 48, p. 1658 (zit. nach Ber. ges. Phys. 95, 545).
5. Roger: Questions actuelles de la Biologie Médicale, Paris 1924.
6. Tominaga: Fol. endocrin. jap. 1934, 10, H. 6 (zit. nach Ber. ges. Phys. 84, 322).
7. Dadlez und Koskowski: C. r. Soc. Biol. Paris 1935, 118, 95 (zit. nach Ber. ges. Phys. 86, 279).
8. Binet: Etude histophysiologique et biochimique, Traité de Physiologie von Roger und Binet, Bd. V (Poumon).
9. Yun: Jap. J. Obstetr. 1936, Bd. 19, p. 176 (zit. nach Ber. ges. Phys. 95, 405).
10. Michelazzi: Riv. Pat. sper. 1933, Bd. 10, p. 253 (zit. nach Ber. ges. Phys. 74, 178).
11. Jacoby: Zeitschr. physiol. Chemie 1901, Bd. 33, p. 126.
12. Meyer-Gottlieb: Die experimentelle Pharmakologie, 9. Aufl. 1936.
13. Duval und Binet: Presse méd. 1936 II, 1800.
14. Fried: J. exper. Med. 1933, Bd. 57, p. 111.
15. Henschen: Die postoperativen Pneumopathien, Basel 1934.
16. Featherstone: Brit. J. Surg. 1925, Bd. 12, p. 487.
17. Hutyra und Marek: Spez. Path. und Ther. der Haustiere, 1913.
18. Ceelen: Die Kreislaufstörungen der Lunge, im Handb. der spez. path. Anat. und Hist. von Henke-Lubarsch.
19. Kaufmann: Lehrb. der spez. path. Anat., 9. und 10. Aufl., 1931.
20. Ellenberger-Baum: Handb. der vergl. Anat. der Haustiere, 1913.
21. Ellenberger: Grundriß der Hist. der Haussäugetiere.